บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ดำเนินการตามขอบเขตของการใช้พื้นที่ อุปกรณ์ เครื่องมือ และวิธีดำเนินการดังนี้

สถานที่วิจัย

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ใช้พื้นที่ปลูกถั่วเหลืองในแปลงทดลองทางการเกษตรคณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร อ.เมือง จ.พิษณุโลก ซึ่งตั้งอยู่ที่ละติจูด 16 องศาเหนือ 44.003 ลิปดา และลองติจูด 100 องศาตะวันออก 11.810 ลิปดา พื้นที่สูงจากระดับน้ำทะเล 48 เมตร โดยในการวิจัยครั้งนี้ได้ทำการวิเคราะห์ผลทางสรีรวิทยาบางประการ ณ ห้องปฏิบัติการภาควิชาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในเมล็ด ณ ห้องปฏิบัติการภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

พันธุ์ถั่วเหลืองที่ใช้ในการวิจัย

ถั่วเหลืองไทย (*Glycine max* (L.) Merrill) เป็นพืชไร่ที่เลือกใช้สำหรับการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ เนื่องจากเป็นพืชตระกูลถั่วที่ให้คุณค่าทางโภชนาการสูงมาก และผู้วิจัยได้ตัดสินเลือกถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เป็นเพียงพันธุ์เดียวสำหรับการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

1. เนื่องจากถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เป็นพันธุ์ถั่วเหลืองที่ให้ผลผลิตและคุณค่าทางด้านสารอาหารสูง คือ มีโปรตีน 43.8 เปอร์เซ็นต์ น้ำมัน 20 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลผลิตสูงเฉลี่ย 280-350 กิโลกรัมต่อไร่

2. ลักษณะเด่นของสายพันธุ์คือ ทนทานต่อโรคราสนิม โรคใบด่าง และไวรัสใบด่าง

3. นิยมปลูกในภาคเหนือตอนล่างมากที่สุด โดยเฉพาะจังหวัดพิษณุโลก (กรมวิชาการเกษตร, 2548)

ระยะเวลาการวิจัย

การศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิในบรรยากาศที่สูงขึ้นต่อองค์ประกอบผลผลิตและคุณภาพสารอาหารในถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merrill) พันธุ์เชียงใหม่ 60 โดยควบคุมระดับอุณหภูมิที่กำหนด 3 ระดับใน 3 ชุดการทดลอง (3 ซ้ำ) ในแต่ละตู้ทดลอง 5 ชั่วโมงต่อวัน ตั้งแต่ 10.00-15.00 น. โดยทำการปลูกตั้งแต่เดือนมกราคม 2552 – มีนาคม 2552 เพื่อวิเคราะห์ผลทางสรีรวิทยาบางประการ ได้แก่ การเจริญเติบโตด้านความสูง ดัชนีพื้นที่ใบ และปริมาณรงควัตถุในใบ (คลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และแคโรทีนอยด์) จากนั้นทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในเมล็ดในเดือนมิถุนายน 2552 – ธันวาคม 2552

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. ชุดวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (Extraction System Model B-811)
2. ชุดวิเคราะห์เยื่อใย (Fiber Analyzer)
3. ชุดวิเคราะห์เถ้า (Futname Thermolyne sybron Tye 48000 Furnace)
4. เครื่อง Spectrophotometer พร้อม cuvette 1 ชุด Model DR 4000
5. ตู้อบลมร้อน
6. Hot plate
7. เครื่องเซนตริฟิวจ์
8. เครื่อง Evaporator

วัสดุอุปกรณ์

1. เมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60
2. Chamber ขนาดกว้าง 1.5 เมตร สูง 1.7 จำนวน 9 ตู้
3. โกร่งบดตัวอย่างใบพืช
4. เครื่องแก้ว ประกอบด้วย
   - 4.1 ชุดเครื่องแก้ววิเคราะห์คลอโรฟิลล์
   - 4.2 ชุดเครื่องแก้ววิเคราะห์ไขมัน
   - 4.3 ชุดเครื่องแก้ววิเคราะห์เยื่อใย
   - 4.4 โถดูดความชื้น
   - 4.5 ชุดถ้วย moisture can วิเคราะห์ความชื้น
   - 4.6 ชุดถ้วยกระเบื้องวิเคราะห์เถ้า
5. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เส้นผ่านศูนย์กลาง 70 มิลลิเมตร

6. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 6 เส้นผ่านศูนย์กลาง 110 มิลลิเมตร

สารเคมี

1. สารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น
2. สารละลายกรดซัลฟูริก เข้มข้น 0.128 โมล
3. สารละลายกรดซัลฟูริก เข้มข้น 0.1 นอร์มอล
4. สารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 32 เปอร์เซ็นต์
5. สารละลายด่างโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.223 โมล
6. สารละลายบอริคเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์
7. ซิลิเนียม
8. อินดิเคเตอร์ (methyl red และ methylene blue)
9. เอ็น-ออกทานอล
10. อะซีโตน เข้มข้น
11. ปิโตรเลียมอีเทอร์
12. เมทานอล
13. Boron Trifluoride
14. โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)
15. Hexane

การเก็บรวบรวมข้อมูล

ขั้นตอนการดำเนินการวิจัยในการศึกษาผลกระทบของระดับอุณหภูมิในบรรยากาศที่สูงขึ้นต่อองค์ประกอบผลผลิตและคุณภาพสารอาหารในถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merrill) พันธุ์เชียงใหม่ 60 ดังนี้

1. การควบคุมระดับอุณหภูมิในตู้ทดลองระบบเปิดด้านบน

ในการทดลองการปลูกถั่วเหลืองใน open top chamber(OTC) ในงานวิจัยนี้จะคลุมด้วยพลาสติกใสรูปทรงกระบอก เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 เมตร สูง 1.7 เปิดหลังคาด้านบน และติดระบบหมุนเวียนอากาศ โดยติดตั้งพัดลมด้านหน้าของตู้บนแปลงทดลอง ณ มหาวิทยาลัยนเรศวร แบบ Randomized Completed Block Design (RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ ดังนี้

การควบคุมระดับอุณหภูมิในห้องทดลอง

1.1 การสร้างตู้ทดลองชนิดเคลื่อนย้ายได้ การศึกษาวิจัยใช้ตู้ทดลองพลาสติกใสรูปทรงกระบอก เส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 เมตร สูง 1.7 เปิดระบายอากาศด้านบน และมีหลังคาพลาสติกใสด้านบนเพื่อกันน้ำฝน ตู้ทดลองนี้จะใช้เพื่อควบคุมอุณหภูมิในระดับที่กำหนดใน แปลงปลูกและควบคุมระดับอุณหภูมิไว้ซึ่งใช้จำนวนตู้ทดลองทั้งหมด 9 ตู้

1.2 การควบคุมอากาศและลดอุณหภูมิในตู้ทดลอง ดำเนินการโดยการติดพัดลมดูดอากาศบริเวณด้านล่างของด้านหน้าตู้ทดลองเพื่อดูดอากาศเข้า อากาศที่ถูกดูดเข้ามาจะผ่านแผ่นกรองก๊าซมลพิษอื่นๆ โดยการใช้ถ่านกัมมันต์ เป็นตัวกรองและผ่านแผ่นกรองฝุ่นอีก 1ชั้น

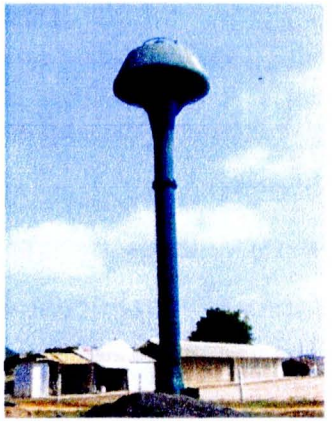
1.3 การควบคุมระดับอุณหภูมิในตู้ทดลองใช้ระบบการควบคุมด้วยอิเลคโทรนิคโดยมีเครื่องบันทึกอุณหภูมิด้วยระบบอิเลคโทรนิคในห้องทดลองซึ่งส่งสัญญาณต่อเชื่อมกับระบบควบคุมการปล่อยน้ำอัตโนมัติโดยสั่งเปิด ปิดน้ำตามสายยางบริเวณด้านข้างห้องทดลอง โดยระบบจะการควบคุมให้วาล์วปล่อยน้ำเพื่อลดอุณหภูมิในกรณีที่อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นกว่าระดับที่ต้องการ ขณะเดียวกันระบบจะการควบคุมให้วาล์วปิดระบบการปล่อยน้ำเมื่ออุณหภูมิลดลงถึงระดับที่กำหนดไว้ ซึ่งการควบคุมระบบนี้ใช้การอ่านค่าอุณหภูมิด้วยเครื่องบันทึกอุณหภูมิด้วยระบบอิเลคโทรนิคและส่งคำสั่งเพื่อปล่อย-หยุดปล่อยน้ำตามระดับอุณหภูมิแต่ละชุดทดลอง (ดังภาพ 2)

1.4 วิธีการควบคุมระดับอุณหภูมิที่แตกต่างกัน 3 ระดับในช่วงฤดูกาลปลูก ดังนี้

1.4.1 ชุดทดลอง LT (Lower Air Temperature) ควบคุมให้ต่ำกว่าระดับอุณหภูมิธรรมชาติภายนอกตู้ทดลองระหว่างการวิจัย (30-33 °C)

1.4.2 ชุดทดลอง AT (Ambient Air Temperature) ควบคุมให้ใกล้เคียงกับระดับอุณหภูมิภายนอกตู้ทดลองระหว่างทำวิจัย (33-36 °C)

1.4.3 ชุดทดลอง HT (Higher Air Temperature) ควบคุมให้สูงกว่าระดับอุณหภูมิธรรมชาติภายนอกตู้ทดลองระหว่างการวิจัย (37-40 °C)



เชื่อมต่อระบบการใช้น้ำจากแท็งก์เก็บน้ำใหญ่

ควบคุมระยะเวลาของระบบ

เครื่องบันทึกอุณหภูมิด้วยระบบอิเลคโทรนิค
และวาล์วเปิด-ปิดน้ำ

ภาพ 2 แผนผังการติดตั้งระบบควบคุมต่าง ๆ ในแปลงทดลอง

2. การปลูกถั่วเหลืองและการตอบสนองต่อผลกระทบจากอุณหภูมิในบรรยากาศที่สูงขึ้น

2.1 การศึกษาจะทำการควบคุมระดับอุณหภูมิที่กำหนด 3 ระดับใน 3 ชุดการทดลอง (3 ซ้ำ) ในแต่ละตู้ทดลอง 5 ชั่งโมงต่อวัน ตั้งแต่เวลา 10.00-15.00 น.

2.2 การศึกษาถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 โดยการปลูกในแปลงปลูก กว้าง 17 เมตร ยาว 20 เมตร ระยะห่างระหว่างหลุม 20 เซนติเมตร การทดลองจะเริ่มตั้งแต่การเพาะเลี้ยงต้นกล้าให้มีความสูง 3 เซนติเมตร จากนั้นนำตู้ทดลองมาครอบในแปลงปลูก และเริ่มควบคุมอุณหภูมิตลอดจนถึงช่วงเก็บเกี่ยว ซึ่งเป็นระยะประมาณเวลา 3 เดือน

2.3 การปลูกใช้แผนการทดลองแบบ Randomize Completed Block Design (RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ

3. ปัจจัยชี้วัดผลกระทบจากอุณหภูมิในบรรยากาศที่สูงขึ้นที่มีต่อการเจริญเติบโตของถั่วเหลือง

ในการวิจัยกำหนดการเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ผล โดยมีปัจจัยซึ่งเป็นดัชนีชี้วัดผลกระทบในช่วงระยะของอายุถั่วเหลืองในระยะต่าง ๆ ดังนี้

3.1 การเจริญเติบโต

วิเคราะห์จากการเจริญเติบโตทางลำต้น ตามวิธีของสมชาย บุญประดับ, 2543 โดยการวัดทางด้านความสูงที่ระยะ V3, R1, R3,R6 และ R8 ซึ่งเป็นช่วงอายุที่ 26, 36, 75 และ 89 วัน ตามลำดับ

3.2 ดัชนีพื้นที่ใบ (Leaf area index : LAI)

Leaf area index ระยะ R1, R3, R6 และ R8 ซึ่งเป็นช่วงอายุที่ 36, 47, 75 และ 89 วัน ตามลำดับ โดยทำการวิเคราะห์ตามวิธีของ Jones,et al. (1991) โดยคำนวณได้จากสูตร LAI = พื้นที่ใบรวมทั้งหมด / พื้นที่ดินที่พืชนั้นขึ้นอยู่

4. ปัจจัยชี้วัดผลกระทบจากอุณหภูมิในบรรยากาศที่สูงขึ้นที่มีต่อปริมาณรงควัตถุในใบของถั่วเหลือง

เก็บตัวอย่างใบที่ระยะ V3, R1, R3, R6 และ R8 ซึ่งเป็นช่วงอายุที่ 26, 36, 47, 75 และ 89 วันตามลำดับ ตามวิธีของ Yoshida (1976) เพื่อวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุในใบชนิดคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และแคโรทีนอยด์

5. ปัจจัยชี้วัดผลกระทบจากอุณหภูมิในบรรยากาศที่สูงขึ้นที่มีต่อผลผลิตของเมล็ดถั่วเหลือง

เก็บตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลือง ที่ระยะ R8 (Full maturity Stage) ซึ่งเป็นช่วงอายุที่ 89 วัน ตามวิธีของ สุมิตรา ปิ่นทองคำ (2533) โดยเลือกองค์ประกอบที่ชี้วัดทางผลผลิตที่สำคัญ ได้แก่ จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนัก 100 เมล็ด

6.ปัจจัยชี้วัดผลกระทบจากอุณหภูมิในบรรยากาศที่สูงขึ้นที่มีต่อคุณภาพสารอาหารของผลผลิตในเมล็ดถั่วเหลือง

เก็บตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองจากระยะ R8 และนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี โดยการวิเคราะห์ไขมัน เถ้า และเยื่อใย ตามวิธีของ AOAC, 1995

7. การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการตรวจวัดดัชนีในด้านต่าง ๆ มาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยเลือกใช้สถิติเพื่อการวิเคราะห์ข้อมูลระหว่าง 3 สิ่งทดลอง แบบ F-Test ตามลำดับและเลือกการวิเคราะห์แบบ Randomized Completed Block Design (RCBD) และเลือกวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ทดสอบเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของทุกกลุ่มทดลอง

8. การนำเสนอแนวทางการจัดการสำหรับการเตรียมความพร้อมเพรียงสำหรับสถานการณ์ภาวะโลกร้อน

นำผลมาวิเคราะห์ สร้างข้อเสนอแนะทางด้านนโยบายในระดับ 3 คือ ระดับประเทศ ระดับท้องถิ่น และระดับการวิจัย